EINFLUSS DER β-LAKTAM-ANTIBIOTIKA AUF DIE ANTIBAKTERIELLE AKTIVITÄT VON AMINOGLYKOSIDEN

Barbara Fischer

1981

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41536528_0072

Aus dem Institut für Mikrobiologie und Virologie
der Universität Düsseldorf
Direktor: Prof. Dr. P. Naumann

EINFLUSS der β-LAKTAM-ANTIBIOTIKA auf die ANTIBAKTERIELLE AKTIVITÄT von AMINOGLYKOSIDEN

DISSERTATION
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
Der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf
vorgelegt von

Barbara Fischer

1981

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit der Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf

Der Dekan
der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf
gez.: Prof. Dr. Straßburg

Referent
gez.: Prof. Dr. Rosin

Korreferent
gez.: Priv.-Doz. Dr. von Voss

Mein Dank gilt Prof. Dr. P. Naumann, der mir als Institutsdirektor einen Arbeitsplatz zur Durchführung des experimentellen Teils der Arbeit zur Verfügung stellte, und insbesondere meinem Doktorvater, Prof. Dr. H. Rosin, für seine freundliche Hilfe und Betreuung.

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
I.	Einleitung	1
II.	Material und Methodik	1
III.	Ergebnisse	3
	A Antibakterielle Aktivität der Kombinationen von Ampicillin plus Gentamicin gegen E. coli.	3
	B Antibakterielle Aktivität der Kombinationen von Carbenicillin plus Gentamicin gegen Pseudomonas.	7
	C Antibakterielle Aktivität der Kombinationen von Cephalothin plus Gentamicin gegen Klebsiella.	12
	D Zusammenfassung der Ergebnisse.	17
IV.	Diskussion	18
	A Wirkungsmechanismus von Aminoglykosid-Antibiotika.	18
	B Wirkungsmechanismus der β-Laktam-Antibiotika.	19
	C Diskussion der Ergebnisse.	20
	D Ausblicke.	23
V.	Zusammenfassung	24
VI.	Literatur	25

I. Einleitung

Die Sepsis mit gram-negativen Bakterien stellt den Arzt vor große Probleme, da er mit der Therapie beginnen muß, bevor die Ergebnisse der bakteriologischen Erregeridentifizierung und Empfindlichkeitsprüfung vorliegen. Bis heute existiert noch kein Medikament, mit dem universell alle bakteriellen Infektionserreger erfolgreich bekämpft werden können. Aminoglykosidantibiotika zeichnen sich zwar durch starke antibakterielle Wirkung auf die meisten gram-negativen Bakterien aus; ihre Einsatzmöglichkeit in der Praxis ist jedoch wegen ihrer gefährlichen potentiellen Oto- und Nephrotoxizität eingeschränkt.
Schon seit längerer Zeit weiß man, daß Aminoglykosidantibiotika in geringer Konzentration die bakterizide Wirkung von Penicillin und seinen Derivaten synergistisch verstärken können. Daher werden entsprechende Antibiotikakombinationen bei der unmittelbar lebensbedrohenden Sepsis oder bei pharmakokinetisch schlecht zugänglichen Infektionsorten bevorzugt eingesetzt. Sie ermöglichen bei penicillinempfindlichen Erregern ein Optimum an antibakterieller Wirkung, ohne daß bei der engen therapeutischen Breite der Aminoglykoside das Risiko einer höheren Dosierung eingegangen werden muß. Gram-negative Stäbchenbakterien, speziell Hospitalkeime, zeigen jedoch zunehmende Resistenz gegen Penicillin- und Cephalosporinderivate. Der Therapieerfolg ist bei solchen Erregern in erster Linie von der Aminoglykosidwirkung abhängig.
Daher ist es die Aufgabe dieser Arbeit zu prüfen, ob die antibakterielle Aktivität von Aminoglykosiden in Kombination mit einer subinhibitorischen Konzentration eines β-Laktam-Antibiotikums in ähnlicher Weise gesteigert wird wie bei der bekannten synergistischen Wirkungssteigerung der Penicillinderivate durch subinhibitorische Konzentrationen eines Aminoglykosids. Die beiden Wirkstoffe werden so miteinander kombiniert, daß einmal der eine und einmal der andere der beiden Partner in konstanter subinhibitorischer Konzentration vorliegt.

II. Material und Methodik

Aus der Stammsammlung des Instituts für Medizinische Mikrobiologie und Virologie der Universität Düsseldorf wurden 35 Bakterienstämme ausgewählt: 8 Escherichia coli-Stämme, deren minimale Hemmkonzentrationen (MHK) von

Ampicillin 4 mcg/ml und 2 mcg/ml betrugen, 17 Pseudomonas pyocyanea-Stämme , deren minimale Hemmkonzentrationen von Carbenicillin bei 128 mcg/ml und 64 mcg/ml und 10 Klebsiella-Stämme, deren minimale Hemmkonzentrationen von Cephalothin zwischen 1 mcg/ml und 32 mcg/ml lagen. Alle Stämme waren Gentamicin-sensibel bis mäßig sensibel (MHK $\leq$ 4 mcg Gentamicin/ml).

Zunächst wurden für diese Stämme die minimalen Hemmkonzentrationen von Gentamicin allein, zusätzlich bei den E.coli von Ampicillin, bei den Pseudomonas von Carbenicillin und bei den Klebsiellen von Cephalothin bestimmt. Diese Messungen erfolgten nach dem von der ICS-Gruppe empfohlenen Verfahren (6).

Anschließend wurden die gleichen Reihenverdünnungsuntersuchungen noch einmal durchgeführt, wobei nun einmal Gentamicin und einmal das Penicillin- bzw. Cephalosporinderivat in konstanter subinhibitorischer Konzentration vorgelegt wurde. Als konstante Konzentration wurde jeweils die Konzentration gewählt, die 1 Verdünnungsstufe (Faktor 2) unter der zuvor ermittelten minimalen Hemmkonzentration lag.

Das Testmedium war Mueller-Hinton-Bouillon der Firma Oxoid, CN 24020032 bzw. 293620037.

Als Testsubstanzen wurden verwendet:
Gentamicinstandardsubstanz in analytischer Einwaage, E.Merck, Darmstadt, CN aufgelöst in Phosphatpufferlösung, pH 7.8.
Ampicillinstandardsubstanz, Bayer-AG, pt. 6192 p Binotal-Na, aufgelöst in Phosphatpufferlösung, pH 6.5.
Carbenicillinstandardsubstanz, Bayer-AG, Microcillin 300093, aufgelöst in Phosphatpufferlösung, pH 7.0.
Cephalotin, Ceph.sodium ref.std., Lot 7 HM3 6, Lilly Research Centre Ltd., aufgelöst in Phosphatpufferlösung, pH 6.5.

Die Keimdichte im Teströhrchen von ca. 0.5×10^6 Bakterien/ml wurde erzielt durch eine 2000-fache Endverdünnung von einer 18-Stunden-Bouillon-Kultur des jeweiligen Teststammes. Bei den Pseudomonas-Stämmen wurde zur exakten Einstellung der Keimdichte zunächst die Kahmhaut entfernt.
Zur Kontrolle der Antibiotika-Titrationen diente bei Gentamicin und Car-

benicillin der Prüfstamm Ps. Ellsworth NCTC 10490, bei Ampicillin und Cephalothin der Prüfstamm SG 511 ATCC.
Die Röhrchen der Verdünnungsreihen wurden im Brutschrank bei 37°C inkubiert und nach 20 (und 44) Stunden gegen einen dunklen Hintergrund abgelesen. Die minimale Hemmkonzentration entspricht der Konzentration des in der geometrischen Verdünnungsreihe letzten Röhrchens ohne sichtbare Trübung, also ohne sichtbare Bakterienvermehrung nach 18- 24 Stunden.
Zur Bestimmung der minimalen bakteriziden Konzentration (MBK) wird von den Bouillon-Kulturen nach 20-stündiger Bebrütung ein Ösenausstrich aus allen nicht getrübten und dem ersten getrübten Röhrchen auf einer Blutagarplatte angefertigt und nach weiteren 24 Stunden Bebrütung abgelesen. Die minimale bakterizide Konzentration ist die niedrigste Konzentration in der Verdünnungsreihe, bei der sich in der Subkultur keinerlei Wachstum zeigt. Partielle Bakterizidie (part. BK) liegt dann vor, wenn weniger als 1% des Inokulums in der Subkultur wächst. Im Ösen-ausstrich erscheinen dabei weniger als 30 Kolonien in der Subkultur.

III. Ergebnisse

Alle vorliegenden Ergebnisse sind durch 3-fach wiederholte Ansätze der Verdünnungsreihen gesichert.

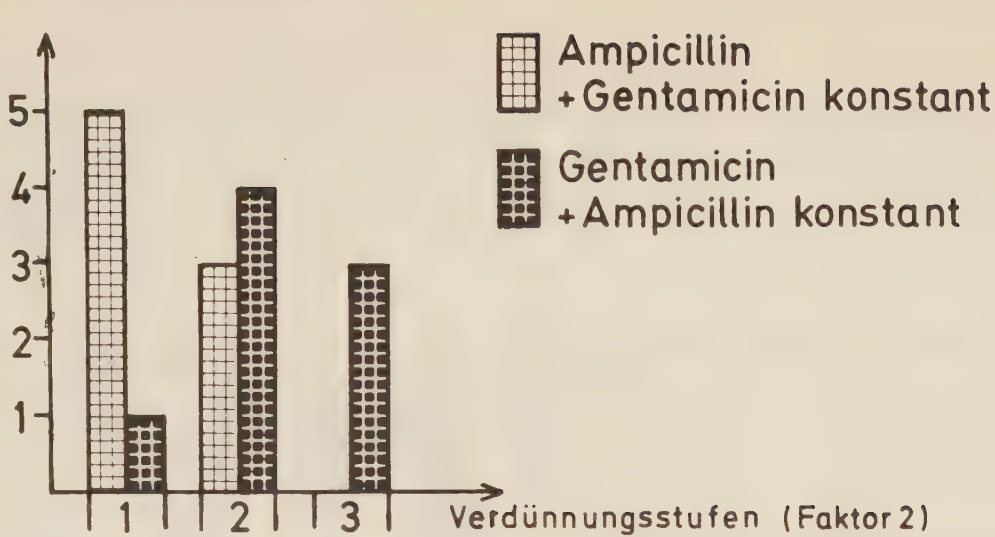
A Antibakterielle Aktivität der Kombinationen von Ampicillin plus Gentamicin gegen E. coli.

Die Resultate der Empfindlichkeitsprüfung von Escherichia coli gegen Gentamicin allein und Ampicillin allein sind in Tabelle 1 aufgeführt. Daneben umfaßt Tabelle 1 die Ergebnisse der Empfindlichkeitsprüfung gegen die Kombinationen Gentamicin + subinhibitorische Ampicillinkonzentration bzw. Ampicillin + subinhibitorische Gentamicinkonzentration.
Die antibakterielle Aktivität von Ampicillin und Gentamicin gegen E. coli wird bei beiden Kombinationsweisen verstärkt. Der Verstärkungseffekt umfaßt 1-4 Verdünnungsstufen. Er betrifft nicht nur die Bakteriostase, sondern auch die partielle und totale Bakterizidie.
In der Kombination mit einer konstanten Ampicillinkonzentration zeigt Gentamicin minimale Hemmkonzentrationen (MHK), die bei 1 Stamm um 1 Verdünnungsstufe, bei 4 Stämmen um 2 Verdünnungsstufen und bei 3 Stämmen um 3 Verdünnungsstufen erniedrigt sind (siehe Abb.1), partiell bakterizide

	Gentamicin allein mcg/ml			Gentamicin + Ampicillin const. mcg/ml			Ampicillin allein mcg/ml			Ampicillin + Gentamicin const. mcg/ml		
	MHK	part. BK	MBK	MHK	part. BK	MBK	MHK	part. BK	MBK	MHK	part. BK	MBK
3236	1	2	2	0,125	0,125	0,25	4	4	128	1	1	1
3641	2	4	4	0,25	0,25	0,25	4	8	32	1	1	2
3725	1	2	2	0,125	0,25	0,5	4	4	16	2	2	2
3330	1	2	2	0,25	0,25	1,0	4	4	8	2	4	4
3409	1	1	2	0,5	0,5	0,5	4	4	4	2	2	2
3352	1	2	2	0,25	0,25	0,5	2	2	2	1	1	1
3509	1	2	2	0,25	0,5	0,5	4	4	4	2	2	4
3473	0,5	0,5	1	0,125	0,125	0,125	2	2	2	0,5	o,5	0,5

Tabelle 1: Ergebnisse der Empfindlichkeitsprüfungen von 10 E. coli-Stämmen gegen Gentamicin, Ampicillin und die Kombination dieser Substanzen mit Ermittlung der minimalen Hemmkonzentrationen (MHK), der partiell bakteriziden Konzentrationen (part. BK) und der minimalen bakteriziden Konzentrationen (MBK).

Konzentrationen (part. BK), die bei 1 Stamm um 1 Verdünnungsstufe, bei 2 Stämmen um 2 Verdünnungsstufen, bei 3 Stämmen um 3 Verdünnungsstufen und bei 2 Stämmen um 4 Verdünnungsstufen niedriger liegen (siehe Abb.1) und total bakterzid wirkende Konzentrationen (MBK), die bei 1 Stamm um 1 Verdünnungsstufe, bei 4 Stämmen um 2 Verdünnungsstufen, bei 2 Stämmen um 3 Verdünnungsstufen und bei 1 Stamm um 4 Verdünnungsstufen erniedrigt sind.
Die minimale Hemmkonzentration von Ampicillin in Kombination mit einer konstanten subinhibitorischen Gentamicin-Konzentration wird bei 5 Stämmen um 1 Verdünnungsstufe und bei 3 Stämmen um 2 Verdünnungsstufen erniedrigt (siehe Abb.1). Die partiell bakterizide Konzentration ist bei 1 Stamm unverändert, bei 4 Stämmen um 1 Verdünnungsstufe, bei 2 Stämmen um 2 Verdünnungsstufen und bei 1 Stamm um 3 Verdünnungsstufen vermindert (siehe Abb. 2), während die minimale, total bakterizid wirkende Konzentration bei 1 Stamm gleichbleibend, bei 3 Stämmen um 1 Verdünnungsstufe und bei je 1 Stamm um 2, 3, 4 und 7 Verdünnungsstufen erniedrigt ist.



Äbb.1:
Häufigkeitsverteilung der Aktivitätssteigerung von Ampicillin in der Kombination mit einer subinhibitorischen Gentamicinkonzentration bzw. von Gentamicin in der Kombination mit einer subinhibitorischen Ampicillinkonzentration gegen 8 E. coli-Stämme, gemessen an der Zahl der Verdünnungsstufen (Faktor 2), um die die minimale Hemmkonzentration(MHK) im Vergleich zu Einzelaktivität jedes Medikaments erniedrigt wird.

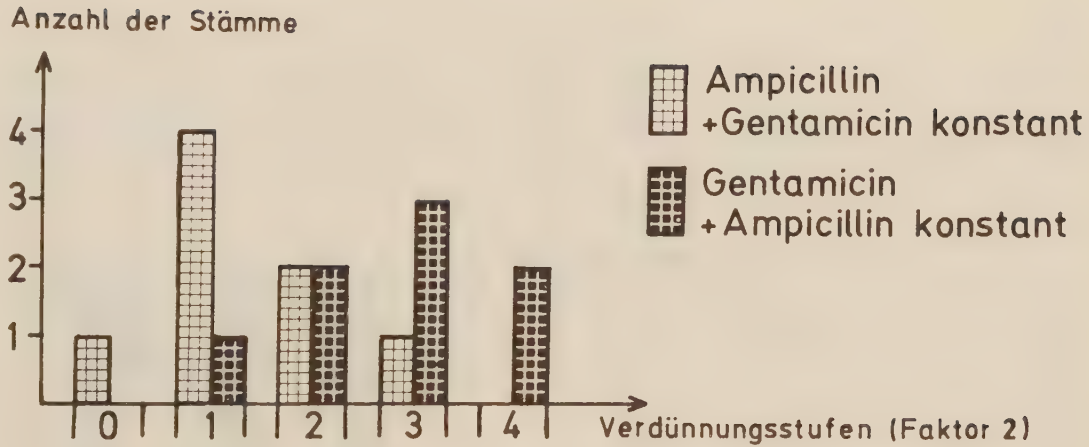


Abb.2:
Häufigkeitsverteilung der Aktivitätssteigerung von Ampicillin in der Kombination mit einer subinhibitorischen Gentamicinkonzentration bzw. von Gentamicin in der Kombination mit einer subinhibitorischen Ampicillinkonzentration gegen 8 E. coli-Stämme, gemessen an der Zahl der Verdünnungsstufen (Faktor 2), um die die partiell bakterizide Konzentration (part. BK) im Vergleich zur Einzelaktivität jedes Medikaments erniedrigt wird.

Zur Zusammenfassung der Einzelergebnisse wird der Schätzwert des Medians, als verteilungsunabhängigem Mittelwert, gewählt:
Die Verstärkung der bakteriostatischen Aktivität von Gentamicin gegen E. coli durch eine subinhibitorische Konzentration von Ampicillin liegt im Mittel bei 2 Verdünnungsstufen. Seine partiell bakterizide Aktivität gegen E. coli wird im Mittel um 3 und seine total bakterizide Aktivität im Mittel um 2 Verdünnungsstufen gesteigert.
Eine niedrige Konzentration von Gentamicin erzielt eine Steigerung der antibakteriellen und partiell bakteriziden Aktivität von Ampicillin gegen E. coli um im Mittel 1 Verdünnungsstufe und eine Verstärkung der total bakteriziden Aktivität um im Mittel 1,5 Verdünnungsstufen.

B Antibakterielle Aktivität der Kombinationen von Carbenicillin plus Gentamicin gegen Pseudomonas.

In Tabelle 2 sind die Ergebnisse der Empfindlichkeitsprüfung von Pseudomonas pyocyanea gegen Gentamicin allein und Carbenicillin allein zusammengefaßt. Daneben sind die Ergebnisse der Kombinationen Gentamicin + subinhibitorische Carbenicillinkonzentration bzw. Carbenicillin + subinhibitorische Gentamicinkonzentration aufgeführt.
Der antibakterielle Effekt von Gentamicin bzw. Carbenicillin auf Ps. pyocyanea wird bei beiden Kombinationsweisen mindestens vervierfacht, d.h. in jedem Fall wirken Gentamicin und Carbenicillin synergistisch, gleich ob Carbenicillin oder Gentamycin den konstanten Anteil der Kombination bildet. Jedoch ist auch hier die Wirkungsverstärkung von Gentamicin durch eine subinhibitorische Carbenicillinkonzentration deutlich ausgeprägter als diejenige von Carbenicillin durch eine subinhibitorische Gentamicinkonzentration (siehe Abb.3 und 4).
Die Wirkungssteigerung von Gentamicin durch eine niedrige Carbenicillinkonzentration zeigt sich in einer Senkung der minimalen Hemmkonzentration um 3 Verdünnungsstufen bei 4 Stämmen, um 4 Verdünnungsstufen bei 8 Stämmen, um 5 Verdünnungsstufen bei 4 Stämmen und um 7 Verdünnungsstufen bei 1 Stamm (siehe Abb.3). Die partiell bakterizide Konzentration ist bei 1 Stamm um 3 Verdünnungsstufen, bei je 5 Stämmen um 4 und 5 Verdünnungsstufen, bei 4 Stämmen um 6 Verdünnungsstufen und bei 2 Stämmen um 7 Verdünnungsstufen erniedrigt (siehe Abb.4), während die minimale bakterizide Konzentration bei 3 Stämmen um 2 Verdünnungsstufen, bei 1 Stamm um 3 Verdünnungsstufen,

	Gentamicin allein mcg/ml			Gentamicin + Carb. const. mcg/ml			Carb. allein mcg/ml			Carbenicillin + Gentamicin const. mcg/ml		
	MHK	part. BK	MBK	MHK	part. BK	MBK	MHK	part. BK	MBK	MHK	part. BK	MBK
2799	1	2	2	0,063	0,063	0,125	128	256	256	4	16	256
2809	1	2	2	0,031	0,031	0,5	128	256	>512	8	16	>512
4126	1	2	2	0,031	0,016	0,125	64	64	512	8	16	256
3068	1	4	16	0,031	0,063	0,5	128	256	>512	16	32	>512
21890	1	2	4	0,031	0,031	0,25	128	128	256	8	32	>512
21406	1	2	2	0,125	0,125	2,0	128	128	>512	2	16	128
21949	1	2	2	0,063	0,063	4,0	128	128	>512	4	16	>512
2808	1	2	2	0,063	0,063	4,0	128	128	>512	8	16	>512
3423	1	2	4	0,125	0,125	4,0	128	256	>512	8	16	256
3654	0,5	2	16	0,063	0,063	0,125	64	64	>512	8	16	32
19	2	4	16	0,25	0,5	4,o	128	512	>512	8	32	> 128
2368	1	2	2	0,063	0,063	0,063	128	256	>512	32	32	64
23199	0,5	0,5	2	o,o31	0,031	4,0	64	128	>512	1	8	> 512
1498	4	4	4	0,25	0,25	8,0	128	256	>512	16	32	512
22112	1	4	8	0,008	0,031	1,0	128	128	>512	8	16	512
23136	2	16	16	0,125	0,25	4,0	128	128	>512	16	32	> 128
26715	4	16	64	0,25	1,0	2,0	64	64	>512	4	16	>512

Tabelle 2: Ergebnisse der Empfindlichkeitsprüfungen von 17 Ps. pyocyanea-Stämmen gegen Gentamicin, Carbenicillin (Carb.) und die Kombination dieser Substanzen mit Ermittlung der minimalen Hemmkonzentrationen (MHK), der partiell bakteriziden Konzentrationen (part. BK) und der minimalen bakteriziden Konzentrationen (MBK).

bei je 3 Stämmen um 4 und 5 Verdünnungsstufen und bei 1 Stamm um 7 Verdünnungsstufen vermindert ist. Bei 2 Stämmen bewirkt die Kombination mit einer subinhibitorischen Carbenicillinkonzentration keine Steigerung der bakteriziden Aktivität von Gentamicin, bei 4 Stämmen sogar eine Erhöhung der minimalen bakteriziden Konzentration um 1 Verdünnungsstufe.
Die minimale Hemmkonzentration von Carbenicillin in der Kombination mit Gentamicin als dem konstanten Partner in subinhibitorischer Konzentration wird bei 1 Stamm um 1 Verdünnungsstufe, bei 5 Stämmen um 3 Verdünnungsstufen, bei 7 Stämmen um 4 Verdünnungsstufen und bei je 2 Stämmen um 5 und 6 Verdünnungsstufen erniedrigt (siehe Abb.3). Die partiell bakterizid wirkende Konzentration liegt bei 5 Stämmen um 2 Verdünnungsstufen, bei 7 Stämmen um 3 Verdünnungsstufen und bei 5 Stämmen um 4 Verdünnungsstufen tiefer (siehe Abb.4). Der Einfluß einer konstanten, niedrigen Gentamicinkonzentration auf die minimale bakterizide Konzentration von Carbenicillin wird nicht exakt erfaßt, da die totale Bakterizidie von Carbenicillin allein oder in der Kombination nur selten im untersuchten Konzentrationsbereich bis zu 512 (128) mcg Carbenicillin/ml liegt.
Zur Zusammenfassung der Ergebnisse wird wiederum der Schätzwert des Medians, als verteilungsunabhängigem Mittelwert, gewählt:
Eine subinhibitorische Konzentration von Carbenicillin steigert die bakteriostatische Wirksamkeit von Gentamicin gegen Ps. pyocyanea im Mittel um 4 Verdünnungsstufen, die partiell bakterizide Aktivität um im Mittel 5 und die total bakterizide Wirksamkeit um im Mittel 2 Verdünnungsstufen.
Gentamicin,als konstanter Partner in subinhibitorischer Konzentration, verstärkt die bakteriostatische Aktivität von Carbenicillin gegen Ps. pyocyanea um im Mittel 4 Verdünnungsstufen und seine partiell bakterizide Wirksamkeit um im Mittel 3 Verdünnungsstufen. Da bei den meisten untersuchten Pseudomonas-Stämmen Carbenicillin allein bis zu Konzentrationen von 512 mcg/ml nicht total bakterizid wirkt, kann keine quantitative Aussage darüber gemacht werden, welche der beiden Kombinationsformen die größere total bakterizide Wirkungssteigerung ergibt.

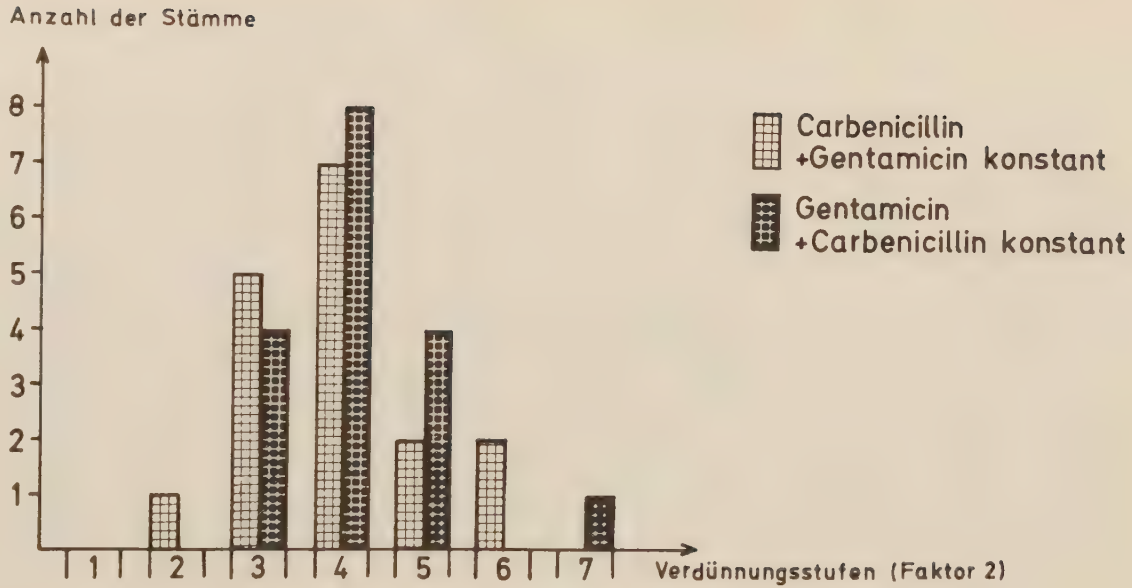


Abb.3:
Häufigkeitsverteilung der Aktivitätssteigerung von Carbenicillin in der Kombination mit einer subinhibitorischen Gentamicinkonzentration bzw. von Gentamicin in der Kombination mit einer subinhibitorischen Carbenicillinkonzentration gegen 17 Pseudomonas-Stämme, gemessen an der Zahl der Verdünnungsstufen (Faktor 2), um die die minimale Hemmkonzentration (MHK) im Vergleich zur Einzelaktivität jedes Medikaments erniedrigt wird.

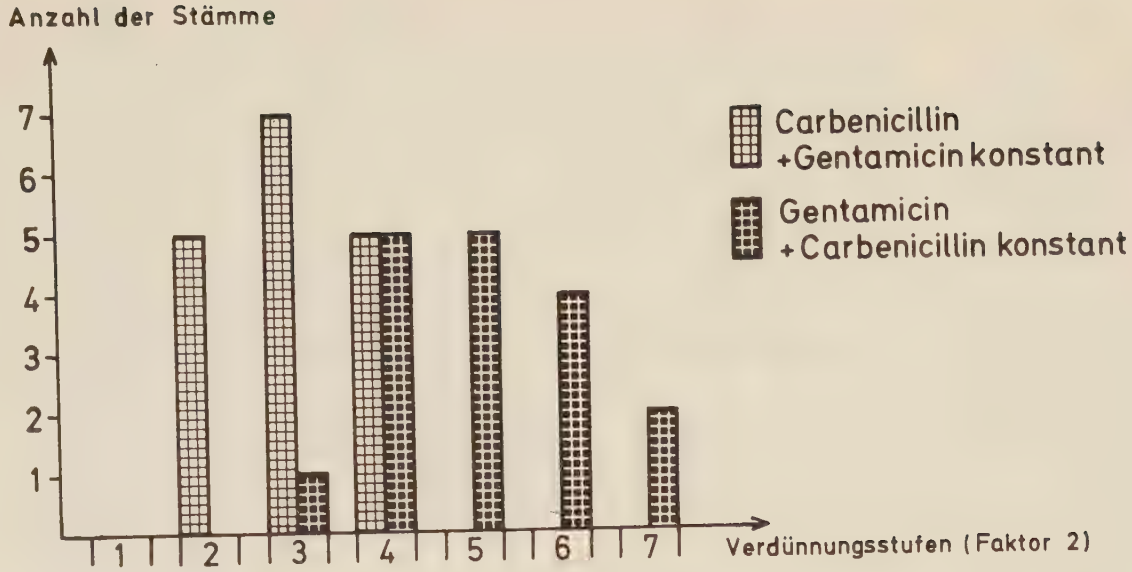


Abb.4:
Häufigkeitsverteilung der Aktivitätssteigerung von Carbenicillin in der Kombination mit einer subinhibitorischen Gentamicinkonzentration bzw. von Gentamicin in der Kombination mit einer subinhibitorischen Carbenicillinkonzentration gegen 17 Pseudomonas-Stämme, gemessen an der Zahl der Verdünnungsstufen (Faktor2), um die die partiell bakterizide Konzentration (part. BK) im Vergleich zu Einzelaktivität jedes Medikaments erniedrigt wird.

C Antibakterielle Aktivität der Kombinationen von Cephalothin plus Gentamicin gegen Klebsiella.

Tabelle 3 umfaßt zum einen die Ergebnisse der Empfindlichkeitsprüfung von Klebsiella gegen Gentamicin allein und Cephalothin allein. Daneben sind die Ergebnisse der Empfindlichkeitsprüfung gegen die Kombinationen Gentamicin + subinhibitorische Cephalothinkonzentration bzw. Cephalothin + subinhibitorische Gentamicinkonzentration aufgeführt.

	Gentamicin allein mcg/ml			Gentamicin + Cephalothin const. mcg/ml			Cephalothin allein mcg/ml			Cephalothin +Gentamicin const mcg/ml		
	MHK	part. BK	MBK	MHK	part. BK	MBK	MHK	part. BK	MBK	MHK	part. BK	MBK
"1488	0,5	0,5	1,0	0,125	0,125	0,5	32	32	128	4,0	4,0	4,0
3559	1,0	1,0	2,0	0,063	0,063	0,25	16	32	128	2,0	4,0	4,0
3597	1,0	1,0	2,0	0,063	0,063	0,063	1	1	2	?	0,125	0,25
3627	1,0	1,0	2,0	0,25	0,25	0,25	2	1	16	0,25	0,5	0,5
3060	o,5	1,0	2,0	0,125	0,125	0,125	4	4	>128	0,5	1,0	1,0
"4504	0,125	0,25	o,5	0,031	0,063	0,125	2	2	128	0,5	0,5	1,0
5663	0,125	0,125	0,125	0,016	0,016	0,031	4	4	8	2,0	1,0	4,0
19553	0,25	0,25	0,5	?	?	?	16	16	>128	2,0	2,0	64,0
1598	0,25	0,25	1,0	0,031	0,031	1,0	32	64	>128	0,5	2,0	128,0
"Klebi	0,25	0,5	0,5	0,125	0,125	0,25	4	16	64	2,0	2,o	16,0

Tabelle 3: Ergebnisse der Empfindlichkeitsprüfungen von 10 Klebsiella- Stämmen gegen Gentamicin, Cephalothin und die Kombination dieser Substanzen mit Ermittlung der minimalen Hemmkonzentrationen (MHK), der partiell bakteriziden Konzentrationen (part. BK) und der minimalen bakteriziden Konzentrationen (MBK).

Wiederholungsprüfungen der Einzelsubstanzen ergeben bei manchen Klebsiella-

Stämmen variierende Werte für die minimalen Hemmkonzentrationen. Diese sind wahrscheinlich auf die unterschiedlichen Einsaatmengen beim Ansetzen der 18-Stunden-Bouillon-Kulturen zurückzuführen. Eine zuverlässige Normierung der Einsaatmengen ist durch die Verklebung der Einzelbakterien infolge der Schleimkapselbildung der Klebsiellen erschwert. Deshalb werden parallel zu den Kombinationsreihen von Cephalothin plus Gentamicin const. von derselben Ausgangssuspension noch einmal auch Verdünnungsreihen mit Cephalothin allein angesetzt. Bei den mit " bezeichneten Stämmen ergeben sich Abweichungen von den Vorversuchen mit Cephalothin allein. Als Grundlage für den Vergleich mit den Werten der minimalen Hemmkonzentrationen in der Kombination werden die Ergebnisse des Parallelansatzes herangezogen. Für Klebsiella 1488 liegt die Mehrzahl der minimalen Hemmkonzentrationen mit Cephalothin allein bei 64 mcg Cephalothin/ml, für Klebsiella 4504 bei 4,0 mcg/ml und für Klebsiella II bei 8,0 mcg/ml.
In den mit ? bezeichneten Zeilen in der Gruppe der Kombinationsuntersuchungen ergeben sich bei mehrfach wiederholten Empfindlichkeitsprüfungen so verschiedene Ergebnisse, daß sich die minimalen Hemmkonzentrationen, die partiell bakteriziden Konzentrationen und die minimalen bakteriziden Konzentrationen nicht auf 1 Wert festlegen lassen.

Durch Zugabe einer konstanten Cephalothinkonzentration zu Gentamicin wird eine um 2 Stufen erniedrigte minimale Hemmkonzentration bei 4 von 9 Stämmen erzielt. Bei 1 Stamm ergeben sich Erniedrigungen von 1 Verdünnungsstufe und bei 2 weiteren Stämmen von 3 und 4 Verdünnungsstufen (siehe Abb.5).
Die partiell bakterizide Konzentration von Gentamicin bei dieser Kombinationsweise liegt bei 4 Stämmen um 2 Verdünnungsstufen, bei 3 Stämmen um 3 Verdünnungsstufen und bei je 1 Stamm um 4 und 5 Verdünnungsstufen tiefer (siehe Abb.6). Die minimale bakterizide Konzentration ist bei je 2 Stämmen um 1, 2, 3 und 4 Verdünnungsstufen vermindert und bei 1 Stamm unverändert.
Bei der Kombination von Cephalothin mit einer konstanten Gentamicinkonzentration zeigt sich als häufigster synergistischer Effekt eine um 3 Verdünnungsstufen erniedrigte minimale Hemmkonzentration bei 5 von 9 Stämmen. Eine Verstärkung des bakteriostatischen Effekts erfolgt um das doppelte, das 4-fache, das 16-fache und 64-fache bei je 1 Stamm (siehe Abb.5). Die partiell bakterizide Konzentration liegt bei je 1 Stamm um 1 und 5 Verdünnungsstufen, bei 3 Stämmen um 2 Verdünnungsstufen und bei 4 Stämmen um 3 Verdünnungsstufen niedriger

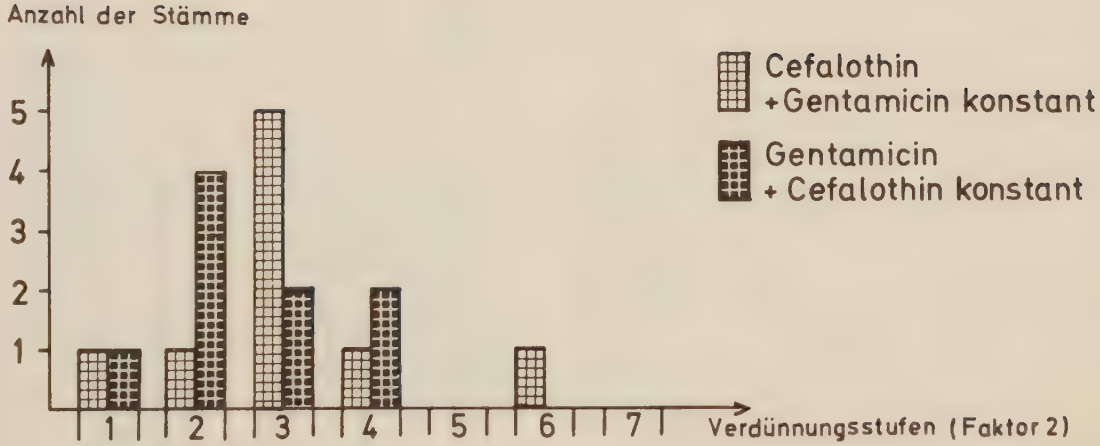


Abb.5:
Häufigkeitsverteilung der Aktivitätssteigerung von Cefalothin in der Kombination mit einer subinhibitorischen Gentamicinkonzentration bzw. von Gentamicin in der Kombination mit einer subinhibitorischen Cefalothinkonzentration gegen 9 Klebsiella-Stämme, gemessen an der Zahl der Verdünnungsstufen (Faktor 2), um die die minimale Hemmkonzentration (MHK) im Vergleich zur Einzelaktivität jedes Medikaments erniedrigt wird.

Abb.6:
Häufigkeitsverteilung der Aktivitätssteigerung von Cefalothin in der Kombination mit einer subinhibitorischen Gentamicinkonzentration bzw. von Gentamicin in der Kombination mit einer subinhibitorischen Cefalothinkonzentration gegen 9 Klebsiella-Stämme, gemessen an der Zahl der Verdünnungsstufen (Faktor 2), um die die partiell bakterizide Konzentration (part. BK) im Vergleich zur Einzelaktivität jedes Medikaments erniedrigt wird.

(siehe Abb.6). Auch hier kann über die Verstärkung des totalen bakteriziden Effekts keine quantitative Aussage getroffen werden, da das Inokulum von 3 der 10 Stämme durch Cephalothin allein auch bei der höchsten untersuchten Konzentrationsstufe von 128 mcg Cephalothin/ml noch nicht 100%ig abgetötet wird und damit die Grundlage für einen Vergleich mit der minimalen bakteriziden Konzentration in der Kombination mit Gentamicin fehlt.

Bei der Zusammenfassung mit Hilfe des Schätzwertes des Medians, als verteilungsunabhängigem Mittelwert, ergibt sich folgendes:

Gegen Klebsiellen ist die Kombination aus Gentamicin und einer subinhibitorischen Konzentration von Cephalothin bakteriostatisch um im Mittel 2 Verdünnungsstufen wirksamer als Gentamicin allein. Die partiell bakterizide Konzentration derselben Kombination liegt im Mittel um 3 Verdünnungsstufen, ihre total bakterizide Aktivität im Mittel um 2 Verdünnungsstufen höher als die entsprechende Aktivität von Gentamicin allein.

Die bakteriostatische und partiell bakterizide Aktivität von Cephalothin gegen Klebsiellen wird durch Gentamicin in subinhibitorischer Konzentration um im Mittel 3 Verdünnungsstufen verstärkt. Die Verstärkung seiner total bakteriziden Wirksamkeit läßt sich wiederum nicht quantitativ erfassen.

D Zusammenfassung der Ergebnisse.

Tabelle 4 zeigt eine Übersicht über die mittleren Aktivitätssteigerungen (Medianwerte der Verdünnungsstufen), die bei den verschiedenen Kombinationen von Gentamicin mit β-Laktam-Antibiotika resultieren.

Bakterienstämme	Aktivitätssteigerung (Medianwerte)			konstanter Kombinationspartner
	MHK	part. Bk	MBK	
E. coli	2	3	2	Ampicillin
	1	1	1,5	Gentamicin
Pseudomonas pyocyanea	4	5	2	Carbenicillin
	4	3	-	Gentamicin
Klebsiella	2	3	2	Cephalothin
	3	3	-	Gentamicin

Tabelle 4: Vergleich der Aktivitätssteigerungen von einerseits Gentamicin mit konstanten subinhibitorischen Konzentrationen von Ampicillin, Carbenicillin oder Cephalothin, andrerseits Ampicillin, Carbenicillin oder Cephalothin in der Kombination mit konstanten subinhibitorischen Konzentrationen von Gentamicin, ausgedrückt als Medianwert der Anzahl der Verdünnungsstufen (Faktor 2), um die sich die MHK, part. BK und MBK im Reihenverdünnungstest erniedrigen.

Es kann festgestellt werden, daß die Aktivität von Gentamicin gegen E.coli- und Pseudomonas pyocyanea-Stämme in Anwesenheit konstanter subinhibitorischer Ampicillin- bzw. Carbenicillinkonzentrationen stärker gesteigert wird, als die Aktivität von Ampicillin bzw. Carbenicillin in Anwesenheit subinhibitorischer Gentamicinkonzentrationen.
Bei der gemeinsamen Wirkung von Cephalothin und Gentamicin ist aus den vorliegenden Ergebnissen eine Überlegenheit der einen oder der anderen Kombinationsform nicht eindeutig ablesbar.

IV. Diskussion

In zahlreichen in vitro- Experimenten und auch in klinischen Studien ist der synergistische Effekt nachgewiesen worden, den Aminoglykosid--Antibiotika in niedriger Konzentration auf die antibakterielle Aktivität von β-Laktam-Antibiotika ausüben können (1, 3, 9, 10, 11, 12, 14, 20). Besonders häufig wurde diese Wirkungssteigerung für die Kombination von Penicillin plus Streptomycin bei der klassischen Behandlungsform der Endocarditis lenta und für die Kombination von Carbenicillin plus Gentamicin oder einem anderen Aminoglykosid bei der Pseudomonasbehandlung nachgewiesen (1, 9, 10).

In dieser Arbeit wurde nun die Frage untersucht, ob und wie stark auch umgekehrt die β-Laktam-Antibiotika zur Steigerung der Aminoglykosid-Aktivität gegen bakterielle Erreger beitragen können.

A Wirkungsmechanismus von Aminoglykosid-Antibiotika.

Aminoglykoside schädigen die Bakterien durch eine Verfälschung der Proteinsynthese. Sie binden sich spezifisch und irreversibel an die 30 S- Untereinheit sensitiver Ribosomen (4). Dadurch verhindern sie die Bildung eines regulären Startkomplexes der ribosomalen 30 S-Untereinheit mit der m-RNS und der aminosäuretragenden t-RNS. Dieser Eingriff in die Anfangsphase des Syntheseprozesses von Peptidketten führt zur Produktion falscher Proteine. Daraus folgt indirekt eine funktionelle Störung der Zellmembran der Bakterien. Diese zieht Veränderungen im Zellwandaufbau und vor allem eine Permeabilitätssteigerung der Zellmembran nach sich (8). Die erhöhte Durchlässigkeit der Zellmembran führt einerseits zur weiteren, verstärkten Aufnahme des Antibiotikums, andrerseits zu einem starken Austritt gelöster Substanzen des Stoffwechsels aus dem Zytoplasma der Bakterien. An diesem Verlust der im Zytoplasma konzentrierten, für den Stoffwechsel notwendigen Stoffe geht das Bakterium zugrunde. Durch die Verfälschung der Proteinsynthese und die resultierende Durchlässigkeit der Zellmembran wirken Aminoglykoside auf stoffwechselaktive Bakterien bakterizid.

Die Integrität und reguläre Funktion der Zellmembran ist eine unabdingbare Voraussetzung für das Leben aller Zellen (2, 19). Bei Bakterien hat die Zellmembran drei fundamentale Funktionen (7):

1. Funktion einer osmotischen Barriere,

2. Steuerung der Konzentration von Nährstoffen und Metaboliten im Zytoplasma,
3. Ort der Biosynthese anderer Zellstrukturen, vor allem der Zellwand.

In Untersuchungen mit Streptomycin wurde festgestellt, daß etwa nur ein Zehntel der Streptomycinkonzentration des umgebenden Milieus im Bakterieninneren den letalen bakteriziden Effekt bewirkt (7). Daraus kann gefolgert werden, daß die Penetration von Aminoglykosiden ins Bakterieninnere durch eine intakte Zellwand stark eingeschränkt wird. Diese Schlußfolgerung wird durch Ergebnisse von LANDMANN und BURCHARD (13) gestützt. Sie fanden, daß die L-Formen spezieller Streptomycin-bedürftiger Salmonella-Stämme nur 5% der Streptomycin-Konzentration zum Wachstum benötigten, die vergleichsweise für das Wachstum der zellwandtragenden vollständigen Salmonellen notwendig war. Auch PHAIR und Mitarb. (18) haben beobachtet, daß Carbenicillin-induzierte Sphaeroblasten von Pseudomonas wesentlich empfindlicher gegen Gentamicin waren, als die vollständigen, zellwandtragenden Pseudomonasformen. Diese Angaben in der Literatur unterstützen die Ausgangshypothese dieser Arbeit, daß der antibakterielle Effekt von Aminoglykosiden durch Substanzen gefördert werden könnte, die die Zellwand schädigen, ohne die Wachstumsvorgänge an der Zellmembran zu behindern.

B Wirkungsmechanismus der β-Laktam-Antibiotika.

β-Laktam-Antibiotika hemmen die Synthese der Zellwand wachsender, empfindlicher Bakterien. Durch Bindung und Blockade der Transpeptidase, die bestimmte Zellwandbausteine in die wachsende Zellwand einfügt, wird der Aufbau der Stützsubstanz, der Mucopeptide, in der Zellwand unterbrochen. Die Zellwand erhält Löcher und Spalten. Durch diese treibt der hohe osmotische Druck im Inneren der Bakterien Ausstülpungen der Zytoplasmamembran bis zu ihrer Lyse. MITCHELL und MOYLE (15) stellten bei Staphylococcus aureus einen osmotischen Druck von 20- 25 atm fest, während gram-negative Stäbchenbakterien einen geringeren osmotischen Druck aufweisen. Er beträgt z.B. bei Escherichia coli immerhin noch 5 atm (15).

Die für die Peptidoglykan-Synthese wichtige Transpeptidase, die durch β-Laktam-Antibiotika blockiert wird, ist der Zellmembran assoziiert (5). Sie gehört zu einem vielfältigen System zellwandaufbauender Enzyme, das

zusammen mit einem System abbauender Enzyme den periplasmatischen Raum, eine schmale, flüssige Zone zwischen Zellwand und Zellmembran, erfüllt. Das Peptidoglykan- oder Mucopeptid-Gerüst der Zellwand ist zwar selbst - speziell bei gram-negativen Stäbchenbakterien - grobmaschig. Für sich allein dürfte es kaum ein Diffusionshindernis für kleine Moleküle sein. In der intakten Zellwand wird es jedoch durch zahlreiche andere Substanzen ergänzt und ausgefüllt. So gewinnt die Zellwand auf der Grundlage des Mucopeptidgerüsts eine hohe Dichte und wird zu einer wirkungsvollen Schutzhülle für die Zellmembran. Störungen im Aufbau der Mucopeptide verringern die Abdichtung der Zellwand durch die ergänzenden Substanzen. Eine beträchtlich erhöhte Durchlässigkeit der Zellwand ist die erste unmittelbare Folge (5). Diese experimentellen Beobachtungen erklären, auf welche Weise der Einfluß der β-Laktam-Antibiotika auf die Mucopeptid-Synthese der Zellwand die Penetration von Aminoglykosiden in das Bakterieninnere erhöhen und ihre Effektivität steigern kann.

C Diskussion der Ergebnisse.

Vor dem Hintergrund dieser Überlegungen ergeben sich folgende Ansatzpunkte zur Diskussion der Ergebnisse dieser Arbeit:

1. Inwieweit sind β-Laktam-Antibiotika in der Lage, die antibakterielle Wirksamkeit von Aminoglykosiden zu steigern?
2. Lassen sich differenziertere Aussagen über diese Wirkungssteigerung im Sinne einer Unterscheidung zwischen Bakteriostase, partieller und totaler Bakterizidie machen?
3. Wie ist die Wirksamkeit dieser "neuen" Kombination im Vergleich zur klassischen Kombination zu beurteilen, bei der, wie bereits aufgeführt, die β-Laktam-Aktivität durch Aminoglykoside gesteigert wird?
4. Welche klinisch-therapeutischen Schlußfolgerungen könnten sich hieraus ergeben?

zu 1: Wie aus den Säulendiagrammen der Abbildungen 1- 6 ersichtlich, bewirkt die Anwesenheit einer konstanten subinhibitorischen Konzentration eines β-Laktam-Antibiotikums eine deutliche Steigerung der

antibakteriellen Wirksamkeit des verwendeten Aminoglykosid-Antibiotikums gegen gram-negative Stäbchenbakterien. Dies steht im Einklang mit den Theorien und experimentellen Beobachtungen zum Wirkungsmechanismus der beteiligten Antibiotika, wonach die β-Laktam-Antibiotika durch ihren bekannten Effekt an der Bakterienzellwand dem Aminoglykosid ein leichteres Vordringen zu seinem Wirkungsort im Inneren der Zelle ermöglichen.
Dabei muß kritisch abgewogen werden, ob es sich hierbei lediglich um einen rein additiven oder um einen echten synergistischen Effekt handelt. "Synergismus wird definiert als gemeinsame Wirkung mit einem Effekt, der die Summe der Einzelwirkungen übertrifft und mit bloßer Dosiserhöhung nicht realisiert werden kann " (17). In der vorliegenden Arbeit wird Synergismus verstanden als Wirkungssteigerung eines Antibiotikums durch die Kombination mit einem anderen Antibiotikum in subinhibitorischer Konzentration. Dabei soll die Wirkungssteigerung eine Erniedrigung der minimalen Hemmkonzentration um 2 und mehr Stufen der geometrischen Verdünnungsreihe umfassen.
Gemäß dieser Definition zeigte die Kombination aus Aminoglykosid und β-Laktam-Antibiotikum in konstanter subinhibitorischer Konzentration gegen 32 von 34 Bakterienstämmen synergistische Wirkung.

zu 2: Aus Tabelle 1- 3 und Tabelle 4 ist zu entnehmen, daß sich die Steigerung der antibakteriellen Aktivität des Aminoglykosids durch β-Laktam-Antibiotika sowohl auf seine bakteriostatische, auf seine partiell bakterizide als auch auf seine total bakterizide Wirksamkeit erstreckt.
Dabei zeigt sich gegenüber allen drei untersuchten Bakterienarten die im Mittel größte Wirkungssteigerung hinsichtlich der partiell bakteriziden Wirkung, während die bakteriostatische und die total bakterizide Wirkung geringer verstärkt wird.
Entgegen dieser Regel erhöhte sich bei 4 der 17 untersuchten Pseudomonas-Stämme die minimale bakterizide Konzentration von Gentamicin in Kombination mit einer konstanten subinhibitorischen Carbenicillin-Konzentration geringfügig um 1 Verdünnungsstufe. Diese Ausnahme von der Regel könnte evtl. die Folge einer gewissen Aminoglykosid- Inaktivierung durch das Carbenicillin sein. Nach mehrstündiger Inkubation können β-Laktam-Antibiotika mit der Aminogruppe von Aminoglykosiden

reagieren, so daß eine biologisch inaktive Amidverbindung resultiert (20). Eine solche partielle Inaktivierung kann sich als relative Erhöhung der minimalen bakteriziden Konzentration (MBK) darstellen, wenn der bakterizide Effekt durch das Aminoglykosid nicht schnell genug eintritt.
Bei der hier festgestellten geringen Verschiebung der MBK um nur 1 Verdünnungsstufe sind allerdings auch methodische, inokulumabhängige Einflüsse nicht auszuschließen.

zu 3: Die Grundlage dieser Gegenüberstellung liegt im Vergleich der Wirkungsverstärkung eines Aminoglykosids durch ein β-Laktam-Antibiotikum einerseits mit der entsprechenden Wirkungsverstärkung eines β-Laktam--Antibiotikums durch ein Aminoglykosid-Antibiotikum andrerseits. Maß der Aktivitätssteigerung ist hierbei die Anzahl der Verdünnungsstufen, um die die minimalen Hemmkonzentrationen (MHK), die partiell bakteriziden Konzentrationen (part. BK) und die minimalen bakteriziden Konzentrationen (MBK) erniedrigt werden.
Danach zeigt sich, daß die antibakterielle Aktivität von Gentamicin gegen E. coli und Ps. pyocyanea durch β-Laktam-Antibiotika deutlicher gesteigert wird als die Aktivität von β-Laktam-Antibiotika durch das Aminoglykosid. Daraus könnte entsprechend den diskutierten Wirkungsmechanismen geschlossen werden, daß die antibakterielle Wirksamkeit von Aminoglykosiden durch erhöhte Zellwandpermeabilität in größerem Maße zu steigern ist als die antibakterielle Aktivität der β-Laktam-Antibiotika durch verminderte Proteinsyntheseleistung der Bakterienzelle.
Gegenüber Klebsiellen konnte ein entsprechender Effekt in dieser Arbeit jedoch nicht nachgewiesen werden. Ob der Grund hierfür in den anfangs beschriebenen methodischen Schwierigkeiten oder in spezifischen Eigenschaften dieser Bakterienart zu suchen ist, muß zunächst dahingestellt bleiben.

zu 4: In der klinischen Praxis wird in erster Linie die Steigerung der antibakteriellen Aktivität von β-Laktam-Antibiotika durch Aminoglykoside genutzt. Dieses therapeutische Vorgehen hat den Vorteil, daß das Aminoglykosid in einer niedrigen, toxikologisch unbedenklichen Dosierung eingesetzt werden kann. Ist aber ein maximaler antibakterieller Effekt dringend erforderlich, sollte nach den vorliegenden Ergebnissen auch das Aminoglykosid-Antibiotikum in hoher Dosierung verabreicht werden.

Sein Effekt wird synergistisch durch die erhöhte Durchlässigkeit der Bakterienzellwand potenziert. Diese Kombinationsweise mit hochdosiertem Aminoglykosidanteil hat dann eine besondere klinische Bedeutung, wenn die Aminoglykosidwirkung für den antibakteriellen Effekt entscheidend ist oder wenn die Infektionserreger im Entzündungsort für das Aminoglykosid-Antibiotikum schlecht zugänglich sind, z.B. bei chronischer Pyelonephritis oder sekundär chronischer Osteomyelitis.

D Ausblicke

Gegenstand der vorliegenden Arbeit waren Reihenverdünnungsuntersuchungen mit gentamicin-sensiblen bis mäßig sensiblen Keimen. In weiteren Untersuchungen wird zu prüfen sein, ob die in dieser Arbeit nachgewiesene Steigerung der antibakteriellen Aktivität von Aminoglykosiden durch β-Laktam-Antibiotika auch gegen solche Bakterien erreichbar ist, die gegen Aminoglykoside nur noch mäßig sensibel bis resistent sind. Es hat sich nämlich gezeigt, daß zunehmende Resistenzentwicklung gegen Aminoglykosid-Antibiotika sehr häufig mit hoher β-Laktamasebildung einhergeht (16). Hohe β-Laktamaseaktivität könnte aber die β-Laktam-Antibiotika so weit inaktivieren, daß eine vermehrte Durchlässigkeit der Zellwand für das Aminoglykosid-Antibiotikum nicht mehr zustande kommt.

In den Reihenverdünnungsuntersuchungen dieser Arbeit wurden die Konzentrationen der β-Laktam-Antibiotika in der Kombination mit Gentamicin so gewählt, daß sie um 1 Verdünnungsstufe unter den bakteriostatischen Konzentrationen des β-Laktam-Antibiotikums allein lagen. Von Interesse ist die Frage, wie weit man in entsprechenden Kombinationen die Konzentration des β-Laktam-Antibiotikums erniedrigen kann, ohne daß sein positiver Einfluß auf die antibakterielle Aktivität des Aminoglykosid-Antibiotikums verloren geht.

V. Zusammenfassung

Es wurde an 35 Stämmen gram-negativer Stäbchenbakterien geprüft, ob und in welcher Weise die antibakterielle Aktivität von Aminoglykosiden in Kombination mit einer subinhibitorischen Konzentration eines β-Laktam-Antibiotikums gesteigert wird. Es kann festgestellt werden, daß die Anwesenheit einer konstanten subinhibitorischen Konzentration eines β-Laktam--Antibiotikums eine deutliche Steigerung der antibakteriellen Wirksamkeit von Gentamicin bewirkt und zwar hinsichtlich sowohl seiner bakteriostatischen als auch seiner partiell bakteriziden als auch seiner total bakteriziden Aktivität. Weiterhin zeigt sich, daß die Aktivitätssteigerung von Gentamicin gegen E. coli und Ps. pyocyanea durch Anwesenheit konstanter subinhibitorischer Ampicillin- bzw. Carbenicillinkonzentrationen deutlicher ausfällt als die Aktivitätssteigerung von Ampicillin bzw. Carbenicillin durch die Anwesenheit konstanter subinhibitorischer Gentamicinkonzentrationen.

Bei der gemeinsamen Wirkung von Cephalothin mit Gentamicin ist aus den vorliegenden Ergebnissen keine eindeutige Überlegenheit der einen oder der anderen Kombinationsform ablesbar.

Die Möglichkeit einer Potenzierung der antibakteriellen Aktivität eines Aminoglykosids durch ein β-Laktam-Antibiotikum gewinnt in der Klinik dann eine große Bedeutung, wenn die Aminoglykosidwirkung für den antibakteriellen Effekt entscheidend ist.

VI. Literatur

1. Andriole, V.T.:
Synergy of Carbenicillin and Gentamycin in Experimental Infection with Pseudomonas. J. of infections diseases. 124, 46- 54 (1971).
2. Brock, T.D.:
Permeability and the Mode of Action of Antibiotics. Antimicrob. Agents Annual 1960, Plenum Press New York. 297- 303 (1961).
3. Bulger, J.R., Kirby, W.M.M.:
Gentamycin and Ampicillin Synergism with other Antibiotics. Amer. J. Med. Sci. 246, 717-726 (1963).
4. Chandra, P.:
Neue Erkenntnisse über den Wirkungsmechsnismus von Chemotherapeutika. Chemotherapie der Problemkeime, (Hrsg.) Holtmeier, H.J. und Weisbecker, L.. 37- 60, Thieme Stuttgart 1974.
5. Costerton, J.W., Ingram, J.M., Cheng, K.-J.:
Structure and Function of the Cell Envelope of Gram-Negative Bacteria. Bacteriol. Rev. 38, 87- 110 (1974).
6. Ericson, H.M., Sherris, J.C.:
Antibiotic Sensivity Testing, Report of an International Collaborative Study. Acta Pathologica et Mikrobiologica, Scandinavia (1971).
7. Gale, E.F.:
Mechanism of Antibiotic Action. Pharmacol. Rev. 15, 481- 530 (1963).
8. Iida, Kyoko, Masaatsu Koike:
Cell Wall Alterations of Gram-Negative Bacteria by Aminoglycoside Antibiotics. Antimicrob. Agents Chemother. 5, 95- 97 (1973).
9. Klastersky, J., Swings, G., Daneau, D.:
Antimicrobial Activity of the Carbenicillin/Gentamycin Combination against Gram-Negative Bacilli. Amer. J. Med. Sci. 260, 373- 380 (1970).
10. Klastersky, J., Cappel, R., Debusscher, L.:
Evaluation of Gentamycin with Carbenicillin in Infections due to Gram--Negative Bacilli. Curr. Ther. Res. 13, 174- 181 (1971).
11. Klastersky, J., Cappel, R., Daneau, D.:
Clinical Significance of In Vitro Synergism between Antibiotics in Gram-Negative Infections. Agents Chemother. 2, 470- 475 (1972).

12. Klastersky, J., Henri, A., Vandenborre, L.:
Antimicrobial Activity of Tobramycin and Gentamycin Used in Combination with Cephalothin and Carbenicillin. Amer. J. Med. Sci. 266, 2- 10 (1973).

13. Landmann, O.E., Burchard, W.:
The Mechanism of Action of Streptomycin as revealed by normal and upnormal Division on Streptomycin-dependend Salmonellae. Proc. nat. Acad. Sci., Wash. 48, 219-228(1962)

14. Libke, R.D., Regamey, C., Clarke, J.T., Kirby, W.M.M.:
Synergism of Carbenicillin and Gentamycin against Enterococci. Antimicrob. Agents Chemother. 4, 564- 568 (1973).

15. Mitchell, P.D., Moyle, J.:
Osmotic Funktion and Structure in Bacteria. Symp. Soc. Gen. Microbiol. 6, 150- 180 (1956).

16. Naumann, P., Rosin, H.:
Neue Antibiotika - Eigenschaften und Grundlagen ihrer Anwendung. Internistische Welt 4, 132 (1979).

17. Naumann, P.:
Chemotherapie und ihre mikrobiologischen Grundlagen im Wandel der Zeit. Therapiewoche 21, 2, 93 (1971).

18. Phair, J.P., Watanakunakoru, C., Bannister, T.:
In Vitro Susceptibility of Pseudomonas aeroginosa to Carbenicillin and the Combination of Carbenicillin and Gentamycin. Appl. Microbiol. 18, 303- 306 (1969).

19. Rogers, H.J.:
Bacterial Growth and Cell Envelope. Bacteriol. Rev.34, 194- 214 (1970).

20. Waitz, J.A., Drube, C.G., Moss, E.J. Jr., Oden, E.N., Bailey, J.V., Wagmann, G.H., Weinstein, M.J.:
Biological Aspects of the Interaction between Gentamicin and Carbenicillin. J. Antibiotics 25, 219 (1972).

21. Weinstein, R.J., Young, L.S., Hewitt, W.L.:
Comparism of Methods for Assessing in Vitro Antibiotic Synergism against Pseudomonas and Serratia. J. Lab. Clin. Med. 86, 853- 862 (1975).

Lebenslauf

Geboren am 7.2.1954 in Rindern/ Kleve
Eltern: Erich Köhler
Elfriede Köhler, geb. Kuhnt

1960- 1963	Besuch der Volksschule in Lampaden/ Trier
1963- 1964	Besuch der Volksschule in Arsbeck/ Erkelenz
1964- 1972	Besuch des math.- nat. Gymnasiums in Hückelhoven- Ratheim
Mai 1972	Reifeprüfung
WS 1972	Beginn des Studiums der Medizin an der Universität Düsseldorf
August 1974	Ärztliche Vorprüfung
August 1975	Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
März 1978	Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
April 1978	Beginn des Praktischen Jahres in den Städtischen Krankenanstalten in Krefeld
Mai 1979	Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
Mai 1979	Eheschließung mit Erik Fischer
Seit Juni 1979	Assistenzärztin in der Kinderabteilung des St.- Clemens- Hospital in Geldern

FOTODRUCK J. MAINZ – Telefon: (02 41) 2 73 05
Neupforte 13, Nähe Markt, 5100 Aachen